



СОЮЗ СОВЕТСКИХ  
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ  
РЕСПУБЛИК

060-10  
ДЛЯ СЛУЖЕБНОГО ПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКЗ. №

(19) SU (11) 1398160 A1

(51) 4 В 01 J 20/20, А 61 К 33/44

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР  
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

## К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 4063348/31-26

(22) 26.02.86

(71) Институт проблем онкологии  
им. Р.Е. Кавецкого

(72) Е.А. Снежкова, В.Г. Николаев  
и Г.Г. Пухова

(53) 667.183.12(088.8)

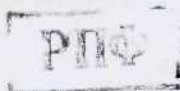
(56) В.Г. Николаев, Метод гемокарбо-  
перфузии в эксперименте и клинике,  
Киев, Наукова Думка, 1984, с.140-160.

D.C. Terman, D. Petty, R. Harbeck  
et al. Specific removal of DNA anti-  
bodies in vivo by extracorporeal  
circulation over DNA immobilized in  
collodion charcoal, Clin. Immunol.  
Immunopathol, 1977, v. 8, 1, p.90-96.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ДНК-СОДЕРЖАЩЕГО  
УГЛЕРОДНОГО ГЕМОСОРБЕНТА

(57) Изобретение относится к области  
гемосорбции, конкретно к технологии  
получения гемоиммуносорбентов, мо-  
жет быть использовано для лечения им-  
мунозависимых заболеваний, патоген-  
ез которых связан с присутствием в  
крови повышенного количества анти-  
ДНК-антител и позволяет повысить  
в 80 раз содержание ДНК в гемосор-  
бенте при сохранении его сорбционных  
характеристик. Сущность способа за-  
ключается в обработке углеродного ге-  
мосорбента раствором ДНК в физиологи-  
ческом растворе хлорида натрия при  
их массовом соотношении, равном 50-  
60:1, последующую сушку и УФ-облуче-  
ние в абсолютном спирте в течение  
30-35 мин. 1 з.п. ф-лы, 3 табл.

(19) SU (11) 1398160 A1





Изобретение относится к области гемосорбции, конкретно к технологии получения гемоиммунсорбентов, и может быть использовано для лечения иммунозависимых заболеваний, например, системной красной волчанки и ревматоидного артрита, патогенез которых связан с присутствием в крови повышенного количества анти-ДНК-антител. Известно, что в подобных случаях очистка крови на специфических адсорбентах, содержащих иммобилизованную ДНК, ведет к снижению концентрации анти-ДНК - антител и улучшению клинического состояния пациентов.

Целью изобретения является повышение содержания ДНК в гемосорбенте при сохранении его сорбционных характеристик.

**Пример 1.** 750 мг синтетического активированного угля СКН-2К  $V_5$  по бензолу  $1,0 \text{ см}^3/\text{г}$ , размер гранул  $0,5-1 \text{ мм}$ ) смешивают с 10 мл 0,9%-ного раствора NaCl, содержащего 12,7 мг тимусной ДНК теленка, (массовое соотношение ДНК и гемосорбента равно  $1:60$ ), помещают на чашку Петри и высушивают в токе холодного воздуха, а затем ресуспендируют в 20 мл абсолютного этанола и облучают под ультрафиолетовой лампой ДБ-30 на расстоянии 10 см от источника в течение не менее 30 мин, а затем удаляют спирт на воронке Бюхнера.

Для определения прочности связывания ДНК с матрицей полученный сорбент промывают на той же воронке 50 мл 0,15 М раствора NaCl, 50 мл 1,5 М раствора NaCl и 6 М раствора мочевины. В этаноле и перечисленных элюатах определяют концентрацию ДНК по методу Спирина. Количество иммобилизированной ДНК вычисляют в примерах 1-3 как разницу между исходным ее количеством, нанесенным на сорбент, и количеством препарата, обнаруженном в этаноле и элюатах, которое приведено в табл. 1.

Таким образом, на углеродной матрице зафиксировано  $12,7-0,24 \text{ мг} = 12,56 \text{ мг}$  ДНК, что составляет 98% от исходного количества материала. На 1 г углеродной матрицы удается иммобилизовать около 16 мг нативной ДНК.

**Пример 2.** 750 мг синтетического активированного угля СУГС

( $V_5$  по бензолу  $0,9 \text{ см}^3/\text{г}$ , размер гранул  $0,4-0,6 \text{ мм}$ ) смешивают с 7 мл 0,9%-ного раствора NaCl, содержащего 15 мг тимусной ДНК теленка соотношение ДНК : гемосорбент= $1:50$ , помещают на чашку Петри и высушивают в токе холодного воздуха, а затем ресуспендируют в 20 мл абсолютного этанола и облучают под ультрафиолетовой лампой ДБ-30 на расстоянии 10 см от источника в течение 30 мин. После удаления спирта на воронке Бюхнера полученный адсорбент промывают растворами по примеру 1. В этаноле и полученных элюатах определяют концентрацию ДНК по методу Спирина. В результате получают гемосорбент, содержащий на 1 г углеродной матрицы 17,0 мг ДНК.

**Пример 3.** 750 мг синтетического активированного угля СКС  $/V_5$  по бензолу  $0,75 \text{ г}$ , размер гранул  $0,6-1,2 \text{ мм}$  смешивают с 7 мл 0,9%-ного раствора NaCl, содержащего 12,5 мг тимусной ДНК теленка, помещают на чашку Петри и высушивают в токе холодного воздуха, а затем ресуспендируют в 20 мл абсолютного этанола и облучают под ультрафиолетовой лампой ДБ-30 на расстоянии 10 см от источника в течение 30 мин. После удаления спирта на воронке Бюхнера полученный адсорбент промывают растворами по примеру 1. В этаноле и элюатах определяют концентрацию ДНК по методу Спирина. В результате получают гемосорбент, содержащий 13,5 мг ДНК на 1 г углеродной матрицы.

**Пример 4.** К 750 мл угля СКН-2К, 750 мг угля СКС и 750 мг угля СУГС соответственно прибавляют 7 мл раствора ДНК (2 мг ДНК в 1 мл физиологического раствора NaCl) и контактируют в течение 3 ч при комнатной температуре. Через каждый час определяют концентрацию ДНК в растворе по методу Спирина, которая приведена в табл. 2.

Как видно из примера 4, без УФ-облучения иммобилизовать ДНК на углеродный носитель не удастся, концентрация ДНК в контактирующем растворе остается на исходном уровне.

**Пример 5.** Проводят излучение кинетики поглощения витамина  $B_{12}$  (м.м. 1355 дальтон) для определения адсорбционной способности полученных по предлагаемому способу сорбентов в



сравнении с известным способом и исходных углеродных гемосорбентов СКН-2 К. Витамин В<sub>12</sub> как специальное молекулярное вещество очень хорошо поглощается исходными углеродными адсорбентами, поэтому по степени его адсорбции можно однозначно судить о сохранении исходных сорбционных характеристик синтезированных гемосорбентов. Результаты по кинетике поглощения В<sub>12</sub> различными гемосорбентами приведены в табл. 3.

Как видно из приведенных данных, полученных по предлагаемому способу, ДНК-содержащие гемосорбенты почти полностью сохраняют поглотительные свойства исходной матрицы и содержат в 80 раз больше ДНК на единицу веса углеродного носителя.

# Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

1. Способ получения ДНК-содержащего углеродного гемосорбента, включающий обработку углеродного гемосорбента раствором ДНК, последующую сушку и промывку готового продукта, отличающийся тем, что, с целью повышения содержания ДНК в гемосорбенте при сохранении его сорбционных характеристик, обработку ведут раствором ДНК в физиологическом растворе хлорида натрия, а после сушки сорбент подвергают ультрафиолетовому облучению в абсолютном спирте.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что обработку ведут при массовом соотношении ДНК и углеродного гемосорбента равном 1:50-60/.

Т а б л и ц а 1

Вид раствора	Содержание ДНК, мг/мл раствора		
	СКН-2К	СУГС	СКС
Абсолютный спирт	0,14	0,16	0,15
0,15 М NaCl	0,05	0,08	0,05
1,5 М NaCl	0	0	0
6 М мочевины	0	0	0

Т а б л и ц а 2

Тип сорбента	Концентрация ДНК, мг/мл, за время, мин		
	60	120	180
СКН-2К	1,9	1,87	1,88
СКС	1,9	1,9	1,9
СУГС	1,9	1,9	1,9

Т а б л и ц а 3

Тип сорбента	Количество ДНК на 1 г матрицы, мг	Количество витамина В <sub>12</sub> /мкг/, поглощенное углем в стандартных условиях из раствора, содержащего 1000 мкг препарата, в течение инкубации (мин)			
		5	15	30	60
Углеродная матрица СКН-2К	0	250	500	750	820
ДНК-содержащий сорбент СКН-2К/синтезированный по предлагаемому способу/	16	230	480	700	720
ДНК-содержащий сорбент синтезированный по известному способу	0,2	30	47	65	85

Редактор Е. Полионова

Составитель Т. Чиликина

Техред М. Дидык

Корректор О. Кравцова

Заказ 391/ДСП

Тираж 396

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР  
по делам изобретений и открытий  
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-полиграфическое предприятие, г. Ужгород, ул. Проектная, 4